

First Hit

L19: Entry 23 of 24

File: DWPI

Aug 27, 1996

DERWENT-ACC-NO: 1996-439457

DERWENT-WEEK: 199644

COPYRIGHT 2005 DERWENT INFORMATION LTD

TITLE: Decolourisation of melanin to prevent spots and freckles - using compsn  
contg polyphenol oxidase,

PATENT-ASSIGNEE:

ASSIGNEE

CODE

KOBE STEEL LTD

KOBM

PRIORITY-DATA: 1995JP-0051998 (February 17, 1995)

Search Selected

Search ALL

Clear

PATENT-FAMILY:

PUB-NO	PUB-DATE	LANGUAGE	PAGES	MAIN-IPC
<input type="checkbox"/> JP 08217659 A ✓	August 27, 1996		005	A61K007/48

APPLICATION-DATA:

PUB-NO	APPL-DATE	APPL-NO	DESCRIPTOR
JP 08217659A	February 17, 1995	1995JP-0051998	

INT-CL (IPC): A61 K 7/00; A61 K 7/48; A61 K 38/44

ABSTRACTED-PUB-NO: JP 08217659A

BASIC-ABSTRACT:

Decolourisation of melanin uses polyphenol oxidase (lacquase EC1.10.3.2). Also claimed are: melanin decolourisation compsn. contg. polyphenol oxidase; whitening cosmetic contg. polyphenol oxidase in cosmetic base; and prophylactic/remedy of melanin-derived diseases contg. polyphenol oxidase.

The polyphenol oxidase is pref. of commercially available pure substance or crude material (crude enzyme product, polyphenol producing microbe e.g. Pycnoporus coccineus IFO 9763 in situ, or mycelium, culture and/or products therefrom (e.g. concentrate, paste, powder or dilute) or edible mushroom e.g. Psalliota campestris) can be used. USE/ADVANTAGE - The method decolourises melanin by the action of polyphenol oxidase. The method only prevents prodn. of spot and freckle derived from melanin but also treats spot and freckle, and also decolourises various colouration e.g. foods and other industrial products derived from melanin. In an example, decolouration rate (%) by lacquase (polyphenol oxidase EC1.10.3.2; occurring from Pycnoporus coccineus) was determined by reaction with synthetic melanin (100 mg/L) at 30 deg.C in the presence of 50 mM malic acid buffer soln. (pH 4.5) followed by optical density measurement at 470 nm at 8, 15 and 24th hr. to give clear evidence of decolouration of melanin. A whitening skin cream prepn. was prepd. from following prescription (g): 52 liquid paraffin, 10 oleyl monoglyceride,

8 stearic acid, 5 bees wax, 5 cetostearyl alcohol, 5 mg polyphenol oxidase and 20 ml water. An ointment for prophylactic/remedy of melanin-derived diseases was prepared from the following prescription (g): 60 liquid paraffin, 10 oleyl monoglyceride, 8 stearic acid, 5 mg polyphenol oxidase and 20 ml water.

CHOSEN-DRAWING: Dwg.0/1

TITLE-TERMS: DECOLOUR MELANIN PREVENT SPOT FRECKLES COMPOSITION CONTAIN POLYPHENOL OXIDASE

DERWENT-CLASS: D16 D21

CPI-CODES: D03-H01; D05-A02A; D08-B09A;

UNLINKED-DERWENT-REGISTRY-NUMBERS: 0122U

SECONDARY-ACC-NO:

CPI Secondary Accession Numbers: C1996-138120

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 08-217659

(43)Date of publication of application : 27.08.1996

---

(51)Int.Cl.

A61K 7/48  
A61K 7/00  
A61K 38/44

---

(21)Application number : 07-051998

(71)Applicant : KOBE STEEL LTD

(22)Date of filing : 17.02.1995

(72)Inventor : MATSUBARA MASAOKI

KASHINO YOSHINORI

KAKEZAWA MASAOKI

---

(54) METHOD FOR DECOLORING MELANIN

(57)Abstract:

PURPOSE: To not only prevent dermal stains and ephelides derived from melanin but also treat and eliminate the dermal stains and ephelides and further efficiently decolor an industrial product containing the melanin according to a new method using a polyphenol oxidase.

CONSTITUTION: Melanin is decolorized by using a polyphenol oxidase (laccase, EC 1.10.3.2). For example, the polyphenol oxidase is specifically used as an active ingredient of a beautifying and whitening agent or a preventing and therapeutic agent for diseases caused by the melanin. In the case of the beautifying and whitening agent or the preventing and therapeutic agent in the form of an agent for external use, the polyphenol oxidase is preferably blended in an amount of 0.01-10%. In the case of intramuscular administration, the active ingredient is preferably administered in 0.1-100mg/kg dose.

---

### LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's  
decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's  
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

**\* NOTICES \***

JPO and NCIPi are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. \*\*\*\* shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

---

**CLAIMS**

---

[Claim(s)]

[Claim 1] The decolorization approach of the melanin characterized by using a polyphenol oxidase (a laccase, EC1.10.3.2.).

[Claim 2] The melanin decolorant constituent which comes to contain a polyphenol oxidase.

[Claim 3] Whitening cosmetics which come to contain a polyphenol oxidase in the charge basis of makeup.

[Claim 4] The melanin cause \*\*\*\*\* therapy agent which becomes considering a polyphenol oxidase as an active principle.

---

[Translation done.]

**\* NOTICES \***

JPO and NCIPi are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. \*\*\*\* shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

---

**DETAILED DESCRIPTION**

---

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Industrial Application] This invention relates to the decolorization system of melanin, and relates to the decolorization approach of melanin of using a polyphenol oxidase for a detail further, a melanin decolorant constituent, whitening cosmetics, and a melanin cause \*\*\*\*\* therapy agent.

[0002]

[Description of the Prior Art] Besides the skin, the biosynthesis of the melanin is carried out also by the central nerves or the retina, and it is recognizing distribution existence widely in a nature until it results [ from vegetation ] not only in an animal but in a microorganism. Tyrosins of melanin are dopa and the thing in which these carry out a polymerization and which is further changed into a dopa quinone, oxidization subsequently progresses and serves as Indore -5 and a 6-dihydroquinone, and they generate by operation of a tyrosinase.

[0003] The biosynthesis of melanin is performed considering ultraviolet rays as one of the triggers by the cell and melanocyte which exist in the basal layer of epidermis. In the granulation called melanosome, melanin is compounded, matures, and it moves and distributes to an epidermal cell, and is faded by melanocyte with the metabolic turnover of the skin, and in the case of updating, it becomes dirt and drops out. Thus, melanin is bearing the important duty which protects the body from the bad influence of ultraviolet rays, and is an important factor on medicine. However, if the amount of melanin increases, it will become the swarthy skin, and the uneven distribution serves as silverfish (chloasma) and buckwheat dregs (freckle), and poses a big problem on cosmetics.

[0004] It is divided roughly into the prophylaxis which controls melanin generation, and the cure which vanishes the formed melanin as silverfish and a cure against buckwheat dregs.

[0005] The approach of shading UV light used as the trigger of a melanin biosynthesis with a sun block etc. and the approach using the chemicals (for example, ergothioneine, a glutathione, vitamin C, a cysteine, arbutin, a melanin composition inhibitor called sodium thiosulphate) which check a melanin biosynthesis as indicated by JP,53-142515,A, JP,48-44442,A, and JP,63-8314,A are learned by the prophylaxis as indicated by the cosmetics science study group "newest cosmetics science" medicine date news company and (Showa 61-4-15).

[0006] However, the present condition is that the safe satisfying approach without the side effect for carrying out therapy disappearance of the silverfish and buckwheat dregs which have once been formed is not yet developed.

[0007] Although hydroquinone, 4-isopropyl catechol, and hydroquinone mono-benzyl ether might be before used as a skin bleaching agent Although these have a powerful whitening operation, since it may serve as eternal facula if the reason and external use which are the denaturation of a chromocyte and the thing based fatal are continued, in addition side effects, such as dyschromatosis and a rash, are not avoided, either, Current is not marketed but development of safe silverfish and a buckwheat dregs therapy agent is strongly desired in this industry.

[0008] As a cure for silverfish and buckwheat dregs, it is Junichi Miyazaki "skin external preparations.

Although the approach melanin shortens the period which drops out with renewal of epidermis using softening of keratin, such as resorcinol and a salicylic acid, and a remover is learned as it makes and is indicated by application" (Nanzando) the direction Originally, this approach cannot be called cure for silverfish and buckwheat dregs, takes the long period of time of several months to treat, and cannot be good in a realistic cure.

[0009] If recently comes, several approaches of decolorizing the once formed melanin are reported, for example, the approach (JP,6-219933,A) using the culture of a basidiomycete, the approach (Japanese Patent Application No. 5-339855, Japanese Patent Application No. 5-339857) using a hydrogen-peroxide dialytic ferment, and the approach (Japanese Patent Application No. 6-141110) using metalloporphyrin are proposed. However, now, these have not resulted in utilization yet.

[0010]

[Problem(s) to be Solved by the Invention] This invention is made in view of the present condition of such a technique, and it is made in order to develop the new system for treating melanin \*\*\*\*\* it not only prevents generation of silverfish and buckwheat dregs, but generated, such as silverfish and buckwheat dregs.

[0011] Moreover, black finishing-ization of the skin by ultraviolet rays is prevented besides silverfish and buckwheat dregs, or, as for this invention, the charge of makeup which whitening-izes this, and the purpose which develops a prevention therapy agent are also made.

[0012] Moreover, melanin is contained also in matter outside a living body, such as various kinds of coloring products, besides the skin, and, as for this invention, the purpose which develops the new system by which the point that these decolorization is also strongly demanded in the industry is also taken into consideration, and can decolorize melanin is also made.

[0013]

[Means for Solving the Problem] this invention persons acquired new knowledge that a polyphenol oxidase can decolorize melanin, as a result of inquiring wholeheartedly, in order to develop the new system which decolorizes melanin. This invention is further completed based on this useful new knowledge as a result of examination, the new system which decolorizes extensively not only a living body's melanin but also the melanin in the product outside an industrial product and other living bodies is offered, and this invention relates to the decolorization approach of the melanin which uses a polyphenol oxidase (a laccase, EC1.10.3.2), and a melanin decolorant constituent at a detail.

[0014] Although aimed at a product outside a living body called various melanin content (food) industrial products as a melanin decolorant constituent, the thing for others and a living body is also included, for example, skin external preparations are included by it, and the charge of makeup and a melanin cause \*\*\*\*\* therapy agent are mentioned as the example. Moreover, in the latter, it is applied as external preparations, and also it is possible to pharmaceutical-preparation-ize to injections and for it to be directly suitable for the living body affected part. Therefore, this inventions are a charge of skin makeup, and a thing concerning whitening cosmetics in a detail further at the charge of makeup and detail which use a polyphenol oxidase as an operation component.

[0015] Moreover, this invention relates also to the melanin cause \*\*\*\*\* therapy agent which makes a polyphenol oxidase an active principle.

[0016] As a charge of makeup in this invention, various kinds of charges of makeup usually used, such as a cream, a milky lotion, face toilet, and a charge of a pack, are included.

[0017] The whitening cosmetics of this invention are applied beforehand and those who can apply the whitening cosmetics of this invention to the skin with silverfish or buckwheat dregs or the skin which became blackish and came, and can whitening-ize them to \*\*\*\*\*, and can tend to do silverfish and buckwheat dregs in ultraviolet rays can also prevent these generation.

[0018] This agent is applied beforehand and those who can apply the melanin cause \*\*\*\*\* therapy agent of this invention to the skin in which external preparations and injections are main things, and silverfish and buckwheat dregs have them, or the skin which became blackish and came, and it can treat this gradually, and can tend to do silverfish and buckwheat dregs in ultraviolet rays can also prevent these generation.

[0019] Since the matter for this to act effectively is needed on the occasion of the formula of the whitening cosmetics of this invention in addition to the polyphenol oxidase which is an operation component, a prescription must be written suitably if needed.

[0020] Since the matter for this to act effectively is needed on the occasion of the pharmaceutical preparation of the melanin cause \*\*\*\*\* therapy agent of this invention in addition to the polyphenol oxidase which is an active principle, it must blend suitably if needed.

[0021] On the occasion of commercial production of the charge of makeup, a surfactant, an excipient, flavors, a coloring agent, preservatives, a buffer, a stabilizer, etc. are used that what is necessary is just to follow the conventional method of the charge manufacture of makeup, mixing suitably. A polyphenol oxidase is blended 0.01 to 10% preferably 0.001 to 15%, and is taken as external preparations. Although the skin cream of an example 1 was applied to the skin for one month, any abnormalities were not accepted, either, but the safety of this active principle was checked.

[0022] On the occasion of pharmaceutical-preparation-izing of a prevention therapy agent, adjuvants, such as a surfactant, an excipient, a coloring agent, preservatives, a buffer, and a stabilizer, are used that what is necessary is just to follow the conventional method of external preparations and injections manufacture, mixing suitably. In the case of external preparations, this active principle is blended like the case of the charge of makeup, and, also in injections, it should just apply to the affected part thru/or hypodermically that what is necessary is just to apply optimum dose to the affected part a day several times /. In that case, although extent of silverfish and buckwheat dregs, age, etc. adjust a dose, in muscular administration, 0.1-100mg /of active principles is prescribed for the patient kg. Moreover, there is no limit according to above ranks food etc. also (can also use [ without pharmaceutical-preparation-izing using an adjuvant ] only this active principle directly) in the case of industrial use, and it should just make this active principle and the candidate for melanin removal contact suitably. In addition, although 100 mg/kg internal use of this active principle was carried out to the rat, the toxicity according to rank was not accepted but was safe.

[0023]

[Function] A polyphenol oxidase is the blue copper enzyme contained in Japanese lacquer sap, the oxidation polymerization of the urushiol in sap is carried out by operation of a polyphenol oxidase, and it becomes black resin-like Japanese lacquer. There are some which have a polyphenol oxidase also in a mushroom and wood-destroying fungi.

[0024] Although the polyphenol oxidase is sold as a reagent for research and can use a commercial item suitably, it can use a crude enzyme not only depending on a purification enzyme but depending on the case. Moreover, it is possible, and it responds to an application, and the thing of whenever [ proper purification ] is chosen and using the fungus body, culture, and/or processing object (concentration, pasting, the disintegration, or thing that diluted) of polyphenol oxidase production bacilli (for example, *Pycnoporus coccineus* IFO 9763, edible mushroom *Psalliota campestris*, etc.) should just also use it.

[0025] Now, a polyphenol oxidase does not have industrial use and little sale is slightly carried out as a reagent for research. However, the research for applying a polyphenol oxidase to an industrial use way is recently started, and manufacture of artificial Japanese lacquer, manufacture of the antimicrobial activity matter, removal of the phenols in waste fluid, etc. are mentioned as an example. However, it is [ that the function for the function to change a monomer into a polymerization object in removal of the phenol in waste fluid and manufacture of artificial Japanese lacquer to be recognized, and to change a compound in manufacture of the antimicrobial activity matter on the other hand in these cases is only recognized, and ].

[0026] On the other hand, this invention person etc. newly does the knowledge of having the function in which a polyphenol oxidase decolorizes melanin, and makes this invention.

[0027] Although not yet solved fully about the device of the melanin decolorization by this invention, change of the side chain by oxidation of melanin, oxidative degradation, etc. are imagined to be the factor of decolorization.

[0028] Next, the example of a trial and example of this invention are shown.

[0029]



[The example 1 of a trial]

1. Reagent and Laccase (Polyphenol Oxidase, EC1.10.30.2) (Pycnoporus Coccineus Origin, Koken CO., LTD.)

- Synthetic melanin (SIGMA)

2. Reaction Condition, 30 Degrees C, Standing and 50MM Malic-Acid Buffer Solution (PH4.5)

- 100 mg/l In the synthetic melanin 4. activity measurement method pH 4.5 and 30 degrees C, the amount of enzymes which oxidizes one-mol 2 and 6-dimethoxy phenol in 1 second was set to 1kat.

3. The value with an absorbance of 470nm [ before evaluation reaction initiation of decolorization ] was made into 100%, the value with an absorbance of 470nm [ in reaction each time amount ] was expressed with the relative value (%), and decolorization of synthetic melanin was evaluated.

[0030] The synthetic melanin by the polyphenol oxidase was decolorized by the reaction condition of the above 2 using the reagent of the above 1.

[0031] It is as being shown in drawing 1 , and clear melanin decolorization was accepted by the result.

[0032]

[Example 1]

A liquid paraffin 52g Oleic acid monoglyceride 10g Stearin acid 8g Beeswax 5g Cetostearyl alcohol 5g Polyphenol oxidase 5mg Water 20 cc or more was often mixed in the state of deoxidation, and whitening skin cream was manufactured.

[0033]

[Example 2]

A lactic acid 0.2g Propylene glycol 5g Ethyl alcohol 30g Polyphenol oxidase 5mg Water 65 cc or more was often mixed in the state of deoxidation, and the whitening lotion was manufactured.

[0034]

[Example 3]

Stearin acid 1.3g Stearin acid ethyl 1g Glycerol monostearate 1g Purified lanolin 1g Olive oil 1g Liquid paraffin 3g Polyoxyethylene distearate 1g Propylene glycol 5g Polyoxyethylene sorbitan monolaurate 6g Polyphenol oxidase 5mg Water 80 cc or more was often mixed in the state of deoxidation, and the whitening milky lotion was manufactured.

[0035]

[Example 4]

A boric acid 0.3g Borax 1g Aminoethylsulfonic acid 13g Lactic acid 0.25g Titanium dioxide 0.1g ethanol 3g polyvinyl pyrrolidone 2g Polyphenol oxidase 5mg Water 80 or more cc was often mixed in the state of deoxidation, and the whitening pack was manufactured.

[0036]

[Example 5]

A liquid paraffin 60g Oleic acid monoglyceride 10g Stearin acid 8g Polyphenol oxidase 5mg Water 20 cc or more was often mixed in the state of deoxidation, and the ointment-like melanin cause \*\*\*\*\* therapy agent was manufactured.

[0037]

[Effect of the Invention] As stated above, the melanin decolorization system concerning this invention It not only prevents generation of the silverfish (chloasma) originating in melanin, and buckwheat dregs (freckle), but The silverfish in which the place which did not have the effective approach that safety was conventionally high has once been formed, Therapy disappearance of buckwheat dregs is possible, the various coloring (food) industrial products originating in melanin other than a living body can also be decolorized efficiently, therefore this invention offers a melanin decolorization system very extensive and efficient, and safe moreover.

[0038] Moreover, this invention cultivates the way of very useful industrial use to the polyphenol oxidase by which the application according to rank was not developed conventionally.

[Translation done.]

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平8-217659

(43)公開日 平成8年(1996)8月27日

(51)Int.Cl.*	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 7/48			A 6 1 K 7/48	
7/00			7/00	K
				X
38/44	ADA		37/50	ADA

審査請求 未請求 請求項の数4 F D (全 5 頁)

(21)出願番号 特願平7-51998

(22)出願日 平成7年(1995)2月17日

(71)出願人 000001199

株式会社神戸製鋼所

兵庫県神戸市中央区臨浜町1丁目3番18号

(72)発明者 松原 正明

神戸市西区高塚台1丁目5番5号 株式会

社神戸製鋼所西神地区内

(72)発明者 榎野 由憲

神戸市西区高塚台1丁目5番5号 株式会

社神戸製鋼所西神地区内

(72)発明者 掛澤 雅章

神戸市西区高塚台1丁目5番5号 株式会

社神戸製鋼所西神地区内

(74)代理人 弁理士 戸田 親男

(54)【発明の名称】 メラニンの脱色方法

(57)【要約】

【構成】 ポリフェノールオキシダーゼを使用するメラニンの脱色。

【効果】 シミ、ソバカスの生成を予防するだけでなく、従来安全性にすぐれ有効な治療消失法が開発されていなかったところの、一旦形成されてしまったシミ、ソバカスを治療消失させることができるので、これらの予防治療剤ないし美白化粧品として利用できるほか、メラニン含有(食品)工業製品の脱色にも利用できる。

1

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 ポリフェノールオキシダーゼ（ラッカーゼ、EC1.10.3.2.）を使用することを特徴とするメラニンの脱色方法。

【請求項2】 ポリフェノールオキシダーゼを含有してなるメラニン脱色性組成物。

【請求項3】 化粧品基剤中にポリフェノールオキシダーゼを含有してなる美白化粧品。

【請求項4】 ポリフェノールオキシダーゼを有効成分としてなるメラニン原因症予防治療剤。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、メラニンの脱色システムに係り、更に詳細には、ポリフェノールオキシダーゼを利用するメラニンの脱色方法、メラニン脱色性組成物、美白化粧品、及びメラニン原因症予防治療剤に関するものである。

【0002】

【従来の技術】メラニンとは、皮膚の他に、中枢神経や網膜でも生合成され、また動物に限らず、植物から微生物に至るまで自然界に広く分布存在している。メラニンは、チロシンがチロシナーゼの作用によりドーパ、更にドーパキノンへと変換され、次いで酸化が進んでインドール-5, 6-ジヒドロキノンとなり、これらが重合して生成するものである。

【0003】メラニンの生合成は、紫外線をトリガーのひとつとして、表皮の基底層に存在する細胞、メラノサイトで行われる。メラノサイトでは、メラノソームと呼ばれる顆粒中でメラニンが合成、成熟されて表皮細胞に移動、分散し、皮膚の代謝に伴って退色し、更新の際に垢となって脱落する。このように、メラニンは紫外線の悪影響から身体を守る重要な役目を担っており、医学上重要な因子である。しかしながら、メラニン量が多くなると色黒の皮膚となるし、また、その不均一な分布は、シミ（肝斑）、ソバカス（雀斑）となって美容上大きな問題となる。

【0004】シミ、ソバカス対策としては、メラニン生成を抑制する予防法と、形成されたメラニンを消失させる治療法に大別される。

【0005】予防法には、化粧品科学研究会「最新化粧品科学」薬時日報社、（昭61-4-15）に記載されているように、メラニン生合成の引金となるUV光をサンスクリーン剤等で遮光する方法と、特開昭53-142515号公報、特開昭48-44442号公報、特開昭63-8314号公報に記載されているように、メラニン生合成を阻害する薬品（例えば、エルゴチオネイン、グルタチオン、ビタミンC、システイン、アルブチン、チオ硫酸ソーダといったメラニン合成阻害剤等）を用いる方法とが知られている。

【0006】しかしながら、一旦形成されてしまったシ

2

ミ、ソバカスを治療消失せしめるための副作用のない安全な満足できる方法は未だ開発されていないのが現状である。

【0007】以前、ハイドロキノン、4-イソプロピルカテコール、ハイドロキノンモノベンジルエーテルが皮膚漂白剤として用いられたこともあったが、これらは強力な美白作用を有するものの、それは色素細胞の変性、致死に基づくものである故、外用を継続すると永久的白斑となる可能性があり、その他色素異常、かぶれ等の副作用も避けられないため、現在は市販されておらず、当業界においては安全なシミ、ソバカス治療剤の開発が強く望まれている。

【0008】シミ、ソバカスの治療法としては、宮崎順一「皮膚外用剤 その作り方と応用」（南山堂）に記載されているように、メラニンが表皮の更新に伴って脱落する期間を、レゾルシンやサリチル酸といった角質の軟化、剥離剤を用いて短縮する方法が知られているが、この方法は、本来、シミ、ソバカスの治療法といえるものでないし、治療するのに数ヶ月という長期間を要し、現実的な治療法とはいえない。

【0009】最近になると、一旦形成されたメラニンを脱色する方法が数例報告されており、例えば、担子菌の培養物を用いる方法（特開平6-219933号公報）、過酸化水素分解酵素を用いる方法（特願平5-339855、特願平5-339857）、金属ポルフィリンを用いる方法（特願平6-14110）が提案されている。しかしながら、現在のところ、これらはまだ実用化には至っていない。

【0010】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、このような技術の現状に鑑みてなされたものであって、シミ、ソバカスの生成を予防するだけでなく、生成されたシミ、ソバカスなどのメラニン原因症を治療するための新規システムを開発する目的でなされたものである。

【0011】また、シミ、ソバカス以外にも、紫外線による皮膚の黒ずみ化を予防したり、これを美白化する化粧品、及び予防治療剤を開発する目的でも、本発明はなされたものである。

【0012】また、メラニンは皮膚以外にも各種の着色製品等生体外物質にも含まれており、これらの脱色も業界において強く要望されている点も考慮に入れてメラニンを脱色できる新規システムを開発する目的でも、本発明はなされたものである。

【0013】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、メラニンを脱色する新規システムを開発するために鋭意研究した結果、ポリフェノールオキシダーゼがメラニンを脱色し得るとの新知見を得た。本発明は、この有用な新知見に基づき更に検討の結果、完成されたものであって、生体のメラニンはもとより工業製品その他生体外製品中のメ

ラニンをも広範に脱色する新規システムを提供するものであって、詳細には、本発明はポリフェノールオキシダーゼ（ラッカーゼ、EC1.10.3.2）を使用するメラニンの脱色方法、メラニン脱色性組成物に関するものである。

【0014】メラニン脱色性組成物としては、各種メラニン含有（食品）工業製品といった生体外製品を対象とするもののほか、生体を対象とするものも包含され、それには例えば皮膚外用剤が包含され、その一例として化粧料、メラニン原因症予防治療剤が挙げられる。また、後者においては外用剤として適用されるほか、注射剤に製剤化して生体患部に直接適することも可能である。したがって、本発明は、ポリフェノールオキシダーゼを作用成分とする化粧料、詳細には皮膚化粧料、更に詳細には美白化粧料に関するものである。

【0015】また、本発明は、ポリフェノールオキシダーゼを有効成分とするメラニン原因症予防治療剤にも関するものである。

【0016】本発明における化粧料としては、クリーム、乳液、化粧水、パック料など通常用いられる各種の化粧料を含む。

【0017】本発明の美白化粧料は、シミやソバカスのある皮膚や黒ずんで来た皮膚に適用して徐々に美白化することができ、また、紫外線にあたってシミやソバカスのできやすい人はあらかじめ本発明の美白化粧料を適用しておいてこれらの生成を予防することも可能である。

【0018】本発明のメラニン原因症予防治療剤は、外用剤及び注射剤が主たるもので、シミやソバカスのある皮膚や黒ずんで来た皮膚に適用して徐々にこれを治療することができ、また、紫外線にあたってシミやソバカスのできやすい人はあらかじめ本剤を適用しておいてこれらの生成を予防することも可能である。

【0019】本発明の美白化粧料の処方に際しては、作用成分であるポリフェノールオキシダーゼに加えて、これが有効に作用するための物質を必要とするので必要に応じて適宜処方しなければならない。

【0020】本発明のメラニン原因症予防治療剤の製剤に際しては、有効成分であるポリフェノールオキシダーゼに加えて、これが有効に作用するための物質を必要とするので必要に応じて適宜配合しなければならない。

【0021】化粧料の製品化に際しては、化粧料製造の常法にしたがえばよく、界面活性剤、賦形剤、着色料、着色料、保存料、緩衝剤、安定剤等適宜混合して使用される。ポリフェノールオキシダーゼは、0.001～15%好ましくは0.01～10%配合して外用剤とする。実施例1のスキンクリームを1ヵ月間皮膚に適用したが何らの異常も認められず、本有効成分の安全性が確認された。

【0022】予防治療剤の製剤化に際しては、外用剤及び注射剤製造の常法にしたがえばよく、界面活性剤、賦

形剤、着色料、保存料、緩衝剤、安定剤等の補助剤を適宜混合して使用される。外用剤の場合は、本有効成分を化粧料の場合と同様に配合し、適量を患部に数回/日適用すればよく、注射剤の場合も患部ないし皮下に適用すればよい。その場合、シミ、ソバカスの程度、年齢等によって投与量を調整するが、筋肉投与の場合は有効成分を0.1～100mg/kg投与する。また、食品等工業的用途の場合には（補助剤を用いて製剤化することなく、本有効成分のみを直接用いることもできる）、上記のような格別の制限はなく、本有効成分とメラニン除去対象とを適宜接触せしめればよい。なお、本有効成分をラットに対して100mg/kg経口投与したが、格別の毒性は認められず、安全であった。

【0023】

【作用】ポリフェノールオキシダーゼは漆樹液に含まれる青色の銅酵素で、樹液中のウルシオールはポリフェノールオキシダーゼの作用により酸化重合されて黒色樹脂状の漆になる。キノコ、木材腐朽菌にもポリフェノールオキシダーゼをもつものがある。

【0024】ポリフェノールオキシダーゼは、研究用試薬として販売されており、市販品を適宜使用できるが、精製酵素のみでなく場合によっては粗製酵素を使用することができる。また、ポリフェノールオキシダーゼ生産菌（例えば、*Pycnoporus coccineus* IFO 9763、食用キノコ *Psalliota campestris* 等）の菌体、培養物及び/又は処理物（濃縮、ペースト化、粉末化、又は希釈化したもの）を使用することも可能であって、用途に応じて適宜な精製度のものを選択、使用すればよい。

【0025】ポリフェノールオキシダーゼは、現在のところ、工業的用途がなく、わずかに研究用試薬として少量販売されているにすぎない。ただ、最近になって、ポリフェノールオキシダーゼを工業用途に応用するための研究が開始されており、人工漆の製造、抗菌活性物質の製造、廃液中のフェノール類の除去などが、例として挙げられる。しかしこれらの場合、例えば、廃液中のフェノールの除去、人工漆の製造などでは、モノマーを重合物に変える機能が認識されており、一方、抗菌活性物質の製造においては、化合物を変化させる機能が認識されているのみである。

【0026】これに対し、本発明者等は、ポリフェノールオキシダーゼがメラニンを脱色する機能を有することを新たに知見して本発明をなしたものである。

【0027】本発明によるメラニン脱色の機構については、未だ充分に解明されていないが、メラニンの酸化による側鎖の変化、及び、酸化分解などが脱色の要因であろうと推察される。

【0028】次に本発明の試験例及び実施例を示す。

【0029】

【試験例1】

## 1. 試薬

- ・ラッカーゼ(ポリフェノールオキシダーゼ、EC 1.10.30.2) (Pycnoporus coccineus由来、(株)高研)
- ・合成メラニン(SIGMA)

## 2. 反応条件

- ・30℃、静置
- ・50mM リンゴ酸緩衝液(pH4.5)
- ・100mg/l 合成メラニン

## 4. 活性測定法

pH4.5、30℃において、1秒間に1molの2,6-ジメトキシフェノールを酸化する酵素量を1kat\*

\*とした。

## 3. 脱色の評価

反応開始前の470nmでの吸光度の値を100%とし、反応各時間における470nmでの吸光度の値を相対値(%)で表して、合成メラニンの脱色を評価した。

【0030】上記1の試薬を用いて、上記2の反応条件により、ポリフェノールオキシダーゼによる合成メラニンの脱色を行った。

10 【0031】結果は図1に示される通りで、明らかなメラニン脱色が認められた。

【0032】

【実施例1】

流動パラフィン	52g
オレイン酸モノグリセリド	10g
ステアリン酸	8g
蜜ロウ	5g
セトステアリルアルコール	5g
ポリフェノールオキシダーゼ	5mg
水	20cc

以上を脱酸素状態でよく混合し、美白スクンクリームを20※【0033】製造した。

※ 【実施例2】

乳酸	0.2g
プロピレングリコール	5g
エチルアルコール	30g
ポリフェノールオキシダーゼ	5mg
水	65cc

以上を脱酸素状態でよく混合し、美白ローションを製造した。★【0034】

★ 【実施例3】

ステアリン酸	1.3g
ステアリン酸エチル	1g
グリセリンモノステアレート	1g
精製ラノリン	1g
オリーブ油	1g
流動パラフィン	3g
ポリオキシエチレンジステアレート	1g
プロピレングリコール	5g
ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート	6g
ポリフェノールオキシダーゼ	5mg
水	80cc

以上を脱酸素状態でよく混合し、美白乳液を製造した。40☆【実施例4】

☆

【0035】	ホウ酸	0.3g
	ホウ砂	1g
	アミノエチルスルホン酸	13g
	乳酸	0.25g
	二酸化チタン	0.1g
	エタノール	3g
	ポリビニルピロリドン	2g
	ポリフェノールオキシダーゼ	5mg
	水	80cc

以上を脱酸素状態でよく混合し、美白パックを製造した。

\*【0036】  
\*【実施例5】

流動パラフィン	60 g
オレイン酸モノグリセリド	10 g
ステアリン酸	8 g
ポリフェノールオキシダーゼ	5 mg
水	20 cc

以上を脱酸素状態でよく混合し、軟膏状メラニン原因症予防治療剤を製造した。

※品)工業製品も効率よく脱色することができ、したがって、本発明はきわめて広範且つ効率的でしかも安全なメラニン脱色システムを提供するものである。

【0037】

【発明の効果】以上述べたように、本発明に係るメラニン脱色システムは、メラニンに由来するシミ（肝斑）、ソバカス（雀卵斑）の生成を予防するだけでなく、従来安全性の高い有効な方法がなかったところの、一旦形成されてしまったシミ、ソバカスの治療消失が可能であり、また、生体以外のメラニンに由来する各種着色（食※

10

【0038】また、本発明は、従来格別の用途が開発されていなかったポリフェノールオキシダーゼに対して、非常に有用な工業的用途の途を拓くものである。

【図面の簡単な説明】

【図1】試験例1において合成メラニンを脱色した図である。

【図1】

